

О. В. Демешко<sup>1</sup>, А. П. Домарев<sup>2</sup>, В. Н. Ковалев<sup>1</sup>, С. В. Ковалев<sup>1</sup>,  
В. Л. Дубоносов<sup>2</sup>, Л. В. Кричковская<sup>2</sup>, В. В. Погребняк<sup>1</sup>

## АНАЛИЗ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ФИТОСБОРА

<sup>1</sup>Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

<sup>2</sup>Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт», г. Харьков, Украина

*Лекарственные растения являются источником различных биологически активных соединений. Полифенолы, витамин С, а также макро- и микроэлементы выполняют важную функцию в защите организма человека от активных форм кислорода при развитии оксидативного стресса. Изучена антиоксидантная активность, микро- и макроэлементный состав листьев: иван-чая, смородины черной, земляники садовой, ежевики сизой, вистерии китайской. Антиоксидантная активность фитосбора составила 116,5 мг/г. Методами атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией вещества (спектрометр iCE 3500) и атомно-эмиссионной спектроскопии (спектрограф ДФС – 8) в листьях изучаемых лекарственных растений определены следующие элементы: Mg, P, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Cu, Se, Zn, Si, Al, Mo, Ni, Na, Sr. Содержание основных групп биологически активных соединений в фитосборе составляет: аскорбиновой кислоты – 1,60 %, флавоноидов – 10,68 %, оксикоричных кислот – 2,39 %, свободных органических кислот – 12,59 %, дубильных веществ – 12,47 %.*

**Ключевые слова:** аскорбиновая кислота, флавоноиды, оксикоричные кислоты, органические кислоты, дубильные вещества, антиоксидантная активность, макро- и микроэлементы, фитосбор.

### ВВЕДЕНИЕ

Эндогенные антиоксидантные системы не всегда могут защитить человека от развития оксидативного стресса. Следовательно, необходимо найти активаторы, которые обладают положительным влиянием на окислительно-восстановительные реакции в клетке, то есть обеспечивают эквивалентами атомов водорода дыхательную цепь митохондрий, а также включают механизмы, направленные на поддержание физиологических параметров гомеостаза [1, 2]. В этом плане заслуживают внимания лекарственные растения, содержащие различные биологически активные вещества (фенолокислоты, флавоноиды, антоцианы, дубильные вещества, полифенолы и др.), обладающие высокой антиоксидантной активностью и отсутствием побочных эффектов. В настоящее время накоплен значительный экспериментальный материал, который свидетельствует о взаимосвязи антиоксидантной активности (АОА) фенольных соединений с их структурой, а также способности флавоноидов связывать ионы тяжелых металлов с образованием стойких комплексов или

взаимодействовать с высокоактивными свободными радикалами, выступать донорами атомов водорода, останавливать цепь окислительных реакций и проявлять антирадикальную активность [3–5].

Фенольные антиоксиданты растений обладают противовоспалительным, антирадикальным, гепатопротекторным действием, что делает их применение эффективным при лечении сердечно-сосудистых, эндокринных и других заболеваний [6, 7].

Важным компонентом для повышения резистентности организма человека, кроме фенольных антиоксидантов, являются микро- и макроэлементы, которые, связываясь с ферментами, витаминами, гормонами, аминокислотами, принимают участие в окислительно-восстановительных реакциях, а такие элементы как Fe, Cu, Zn, P, K, Mg, Mn, Ca регулируют кислотно-щелочной баланс, обеспечивают постоянство осмотического давления и нормализуют работу желудочно-кишечного тракта [1]. Mg и K незаменимы для нормальной работы сердечной мышцы, Ca принимает участие в передаче нервных импульсов и в регулировании функции эндокринной и

сердечно-сосудистой систем, а комплекс минеральных элементов Mg, Cr, Mn, Zn, Se необходим для процесса выработки поджелудочной железой инсулина. Mn выполняет роль кофактора для ферментов, принимающих участие в реакциях фосфорилирования, препятствует свободно-радикальному окислению, обеспечивает стабильность структур клеточных мембран, участвует в обмене витаминов C, E и группы B.

Актуальной задачей является исследование лекарственных растений с достаточно обеспеченной сырьевой базой и обладающих антиоксидантной активностью.

Цель работы – определение состава эссенциальных макро- и микроэлементов и интегрального значения антиоксидантной активности травы иван-чая (*Chamaenerion angustifolium* L.), листьев смородины черной (*Ribes nigrum* L.), земляники садовой (*Fragaria vesca* Duchs), ежевики сизой (*Rubus caesius* L.), вистерии китайской (*Wisteria sinensis* Sweet) для создания на их основе антиоксидантного фитосбора.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемый фитосбор состоит из 5 видов лекарственного растительного сырья: травы иван-чая (*Chamaenerion angustifolium* L.), листьев смородины черной (*Ribes nigrum* L.), земляники садовой (*Fragaria vesca* Duchs), ежевики сизой (*Rubus caesius* L.), вистерии китайской (*Wisteria sinensis* Sweet), кусочки которых проходят сквозь сито 3–5 мм. Фрагменты листьев имеют цвет от светло-зеленого до зеленого и темно-зеленого, также встречаются кусочки оранжевого цвета. Части травы иван-чая – светло-зеленые, венчики – сине-фиолетового цвета. Сбор имеет специфический запах. Вкус – горьковато-вяжущий.

Образцы сырья собраны в Крыму и на территории ботанического сада НФаУ (Харьков). Для оценки антиоксидантной активности (АОА) использовали 1,0 г сухого сырья каждого компонента фитосбора. Фенольные вещества из лекарственного сырья извлекали водой, объем экстрагента 30 см<sup>3</sup>, время экстракции 30 мин, в колбе с обратным холодильником на кипящей водяной бане. Антиоксидантную активность экстрактов, полученных

из сырья, определяли потенциометрическим методом [8] с применением медиаторной системы  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  в электрохимической ячейке с платиновым электродом (ЭПЛ-02) и хлоридсеребряным электродом (ЭВЛ-1М4), вольтметр В2-34. Электрохимическая ячейка – это стеклянная ячейка объемом 20 см<sup>3</sup>, в которой находится K, Na-буферный раствор (pH = 7,40), а также медиаторная система – растворы  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$ , раствор перемешивают с помощью магнитной мешалки. Анализируемый объем экстракта помещают в электрохимическую ячейку и с помощью вольтметра контролируют изменение потенциала восстановления для реакции  $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ , то есть изменение аналитического сигнала (E, мВ). Величина аналитического сигнала пропорциональна содержанию биофлаваноидов ( $C_x$ ), которые могут отдать атомы водорода ( $e^-$ ,  $H^+$ ), необходимые для реакции восстановления  $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ . Количественную оценку АОА выполняют с применением стандартного образца (галловая кислота), интервал концентраций 1,7–0,021 мг/см<sup>3</sup>, заданная концентрация стандартов необходима для построения градуировочной прямой и определения значения  $C_x$  (рисунок 1).

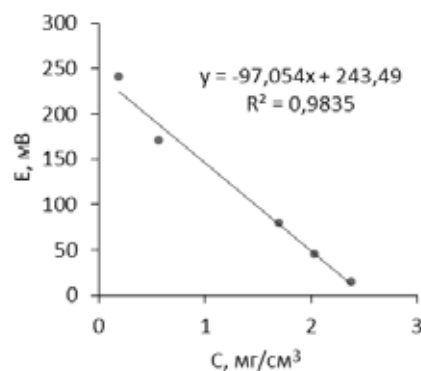


Рисунок 1. – График изменения потенциала восстановления (E, мВ) для калибровочных растворов галловой кислоты ( $C$ , мг/см³)

Интегральное значение АОА (мг/г) определяют по формуле (1):

$$AOA = V_A \cdot C_x \cdot V_1 / V_A \cdot m^{-1}, \quad (1)$$

где  $V_A$  – объем образца для анализа, см<sup>3</sup>;  $C_x$  – значение АОА по градуировочной прямой, мг/см<sup>3</sup>;  $V_1$  – общий объем

анализируемого образца, см<sup>3</sup>;  $V_1/V_A$  – разбавление;  $m$  – масса анализируемого образца, г.

В антиоксидантном лечебно-профилактическом фитосборе определяли количественное содержание аскорбиновой кислоты и свободных органических кислот титриметрическим методом (ГФ XI) [9], дубильных веществ в пересчете на пирогаллол, флавоноидов в пересчете на рутин, оксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту по методикам Государственной фармакопеи Украины (ГФУ) [10].

Качественный состав и количественное содержание микро- и макроэлементов в исследуемых образцах определяли на спектрографе ДФС-8 методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) при испарении пробы из кратера электрода в разряде дуги переменного тока (дуга переменного тока 16 А,  $U = 220$  В, экспозиция 60 с, атомизатор ИВС – 28) [11]. Регистрацию излучения проводили в области 240 – 347 нм, измерение интенсивности спектральных линий выполнено на микрофотометре МФ-4, для определения элементов применяли стандартные образцы СПГ-14 (ГСО 2820 – 83). Согласно результатам фотометрического анализа стандартных образцов строили градуировочную кривую  $I = f(C)$  для каждого определяемого элемента. Массу сухого образца для анализа методом ААС – 1,0 г, минерализацию образца определяли при температуре 500 °С согласно статье 2.4.14 ГФУ [10].

Определение селена (Se) в фитосборе проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией пробы и применением Зеемановской коррекции фона на спектрометре iCE 3500 с электротермическим атомизатором GF95Z [12]. Условия атомно-абсорбционного определения селена: аналитическая линия 196,0 нм, ширина щели 0,5 нм, ток лампы 80 %. Режим температурно-временной программы работы электротермического анализатора при градуировке и анализе образца фитосбора (температура – время): высушивание – 110 °С, 30 с; озоление – 1000 °С, 25 с; атомизация – 2500 °С, 3 с; очистка 2600 °С, 3 с. Измеряется изменение интенсивности излучения линии внешнего источника, что обусловлено поглощением атомов селена. Прибор, согласно заданному алгоритму

анализа, проводит измерения холостого раствора, раствора пробы без добавки определяемого элемента, раствора пробы с добавками определяемого элемента (Se) и строит градуировочную прямую по методу добавок, градуировочный диапазон 2–15 мкг/л. Содержание селена в анализируемом образце определяли по формуле (2):

$$X \text{ (ppm)} = V \cdot C \cdot N / m \cdot 1000, \quad (2)$$

где  $C$  – концентрация Se (мкг/л) в исследуемом растворе;  $V$  – объем исходного раствора (мл);  $N$  – разведение;  $m$  – масса образца (г).

Статистическую обработку результатов проводили по стандартным методам, доверительный интервал вычисляли с применением коэффициента Стьюдента [13].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа АОА экстрактов листьев смородины черной, ежевики сизой, земляники садовой, вистерии китайской и травы иван-чая приведены в таблице 1. Наибольшую антиоксидантную активность проявили экстракты из листьев ежевики сизой и земляники садовой –  $65,84 \pm 0,93$  и  $61,23 \pm 0,34$  мг/г соответственно. АОА для экстрактов листьев смородины черной составила  $43,15 \pm 0,79$  мг/г, травы иван-чая  $53,68 \pm 0,92$  мг/г, меньшая активность выявлена для экстракта листьев вистерии китайской –  $6,0 \pm 0,79$  мг/г. Антиоксидантная активность фитосбора составила  $116,47 \pm 0,36$  мг/г.

Фенольные соединения растений, в частности флавоноиды, оказывают огромное влияние на редокс-статус биологической системы, так как способны изменять метаболизм клеток и их функциональное

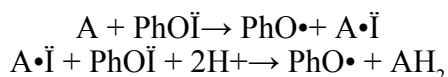
Таблица 1. – Антиоксидантная активность экстрактов листьев, травы и фитокомплекса, мг/г

Сырье	АОА, мг/г
Смородина черная	$43,15 \pm 0,79$
Иван-чай	$53,68 \pm 0,92$
Ежевика сизая	$65,84 \pm 0,93$
Земляника садовая	$61,23 \pm 0,34$
Вистерия китайская	$6,0 \pm 0,79$
Антиоксидантный фитосбор	$116,47 \pm 0,36$

состояние в процессе развития оксидативного стресса [14]. В связи с этим было дополнительно определено количественное содержание основных групп биологически активных веществ (БАВ) в фитосборе (таблица 2). Основную группу БАВ фитосбора представляют флавоноиды и дубильные вещества –  $10,68 \pm 0,25$  % и  $12,47 \pm 0,33$  % соответственно. Содержится значительное количество свободных органических кислот –  $12,59 \pm 0,31$  %. Содержание оксикоричных кислот –  $2,39 \pm 0,06$  %, аскорбиновой кислоты –  $1,60 \pm 0,03$  %.

Аскорбиновая кислота, как известно, – гидрофильный антиоксидант, который обладает высокой активностью в нейтрализации радикалов кислорода в организме человека. Биологическую эффективность аскорбиновой кислоты можно объяснить образованием комплекса в виде аскорбиновой кислоты, полугидроаскорбиновой кислоты и дегидроаскорбиновой кислоты в присутствии глутатиона. Этот комплекс выполняет роль редокс-буфера, функцией

которого является нейтрализация радикалов кислорода [15, 16]. Необходимо также отметить, что флавоноиды (PhOH) антиоксидантного фитосбора могут участвовать в реакциях регенерации дегидроаскорбата (A) и аскорбат анион-радикала ( $A\cdot\dot{I}$ ), образовавшихся из аскорбиновой кислоты ( $AN_2$ ) [17]:



Это указывает на синергизм действия флавоноидов и  $AN_2$  [18, 19] при регулировании окислительно-восстановительных процессов.

Лекарственные растения являются одним из основных природных источников макро- и микроэлементов, которые жизненно необходимы человеку. Изучен качественный и количественный состав минеральных элементов в листьях исследуемых растений и фитосборе. Результаты приведены в таблице 3.

Таблица 2. – Количественное содержание основных групп БАВ в антиоксидантном фитосборе

Флавоноиды, %	Оксикоричные кислоты, %	Свободные органические кислоты, %	Дубильные вещества, %	Аскорбиновая кислота, %
$10,68 \pm 0,25$	$2,39 \pm 0,06$	$12,59 \pm 0,31$	$12,47 \pm 0,33$	$1,60 \pm 0,03$

Таблица 3. – Содержание элементов в листьях и траве исследуемых растений и фитосборе, мг/100г

Элементы	Смородина черная	Земляника	Ежевика	Иван-чай	Вистерия китайская	Антиоксидантный фитосбор
Fe	22,4	26,4	22,5	8,6	19,7	18,9
Si	170	200	150	38	235	190
P	190	120	110	81	100	190
Mg	335	230	260	145	235	400
Ca	1000	530	560	360	670	945
Na	50	52	30	33	55	125
K	2800	1650	1875	1345	1975	3780
Zn	6,7	5,3	4,5	2,9	7,1	6,3
Mn	0,45	4,0	5,6	8,4	27,6	0,44
Sr	3,3	0,66	1,9	0,7	1,6	1,3
Cu	0,33	0,26	0,37	0,21	0,59	0,56
Ni	0,056	0,0066	0,11	0,086	0,16	0,063
Al	39,2	16,5	22,5	8,6	9,5	44,1
Mo	0,056	0,0066	0,037	<0,03	0,039	0,063
Pb	0,11	< 0,03	<0,03	<0,03	0,39	0,12
Потери, прокаливании, масс. % *	88,79	93,43	92,49	95,18	92,09	87,42

Примечание: \* – потери органического компонента после прокалывания приведены в масс.% от первоначальной массы образца.

Выявлено наличие 16 элементов, 7 из них относятся к макро- (Fe, Si, P, Mg, Ca, Na, K), 7 микро- (Zn, Mn, Sr, Cu, Ni, Al, Mo) и 2 ультрамикроэлемента (Se, Pb). Содержание тяжелых металлов находится в пределах нормы, а уровень токсических и редкоземельных элементов ниже предела обнаружения [20].

Селен в растительном сырье находится в форме селенометионина и, согласно результатам анализа, его содержание в фитосборе составляет 0,03 ppm. Биологическая функция селена в организме человека связана с его участием в функционировании основных антиоксидантных систем глутатионпероксидазы, цитохрома C и глицинредуктазы. Дефицит селена ведет к снижению иммунитета [14, 21].

Длительные депрессии и оксидативный стресс ведут к нарушению внутриклеточного гомеостаза, метаболизма и антиоксидантного баланса. Согласно результатам исследования разработанного фитосбора, проведенного *in vivo* на модели глюкокортикоидного индуцированного оксидативного стресса, фитосбор обладает гепатопротекторным эффектом, который реализуется через антиоксидантный механизм действия [15].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов исследования антиоксидантной активности травы иванчая, листьев смородины черной, земляники садовой, ежевики сизой и вистерии китайской показал, что на их основе можно создать лечебно-профилактический фитосбор.

Установлено содержание основных биологически активных веществ фитосбора: аскорбиновой кислоты – 1,60 %, флавоноидов – 10,68 %, оксикоричных кислот – 2,39 %, свободных органических кислот – 12,59 %, дубильных веществ – 12,47 %. Выявлено наличие 16 микро- и макроэлементов.

Фитосбор может служить основой для разработки новых эффективных лечебно-профилактических препаратов, необходимых для торможения оксидативного стресса.

### SUMMARY

O. V. Demeshko, A. P. Domarev,

V. N. Kovalev, S. V. Kovalev,

V. L. Dubonosov, L. V. Krichkovskaya,

V. V. Pogrebnyak

### ANALYSIS OF PROMISING MEDICINAL PLANTS FOR PREPARING ANTIOXIDANT THERAPEUTIC HERBAL SPECIES

Medicinal plants are a source of various biologically active compounds. Polyphenols, vitamin C as well as macro- and microelements perform an important function in protecting the human body from reactive oxygen intermediates during the development of oxidative stress. Antioxidant activity, micro- and macronutrient composition of leaves were studied: *Chamaenerion angustifolium*, *Ribes nigrum*, *Fragaria vesca*, *Rubus caesius* and *Wisteria sinensis*. Antioxidant activity of the herbal species was 116,5 mg/g. The following elements: Mg, P, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Cu, Se, Zn, Si, Al, Mo, Na, Sr were determined in the leaves of the medicinal plants studied by the methods of atomic-absorption spectroscopy with electrothermal atomization of the substance (spectrometer iCE 3500) and atomic emission spectroscopy (spectrograph DFS-8). The content of the main groups of biologically active compounds in herbal species is: ascorbic acid – 1,60 %, flavonoids – 10,68 %, hydroxy-cinnamic acids – 2,39 %, free organic acids – 12,59 %, tannins – 12,47 %.

Keywords: ascorbic acid, flavonoids, hydroxyl-cinnamic acids, organic acids, tannins, antioxidant activity, macro- and micronutrients, herbal species.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. – М.: Мир, 1993. – Т. 1 – 384 с., Т. 2 – 415 с.
2. Меньщикова, Е. Б. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. В. Кандалинцева. – LAP Lambert. – 2012. – 496 с.
3. Шульга, Л. І. Антиоксидантний профіль нового рослинного засобу, дослідження на модельних системах *in vitro* / Л. І. Шульга // Фармаком. – 2012. – № 4. – С. 77–80.
4. Hermes-Lima, M. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals Functional Metabolism / M. Hermes-Lima //

Regulation and Adaptation. – 2004. – Chapter 12. – P. 319–368.

5. Lee, J. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals / J. Lee, N. Koo, D. Min // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. – 2004. – Vol. 3. – P. 21–33.

6. Brewer, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications / M. S. Brewer // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. – 2011. – Vol. 10. – P. 221–247.

7. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский [и др.]. – Пушино: Synchrobook, 2013. – 310 с.

8. Шарафутдинова, Е. Н. Качество пищевых продуктов и антиоксидантная активность / Е. Н. Шарафутдинова, А. В. Иванова, А. И. Матерн. – Аналитика и контроль, 2011. – Т. 15. – № 3. – С. 281–282.

9. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.

10. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.

11. Спектральный анализ чистых веществ / Под редакцией Х. И. Зильберштейна. – Л.: Химия. – 1971. – 461 с.

12. Optimization of high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for direct analysis of selected trace elements on whole blood samples / M. Wojciak-Kosior [et al.] // *Talanta*. 2017. – V. 165. – P. 351–356.

13. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доповнення 4. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. – 540 с.

14. Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство / Под

ред. О. Г. Хурцилавы, Н. Н. Плужникова, Я. А. Накатиса // Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2012. – 340 с.

15. Реактивация системы глутатиону фенольными антиоксидантами / А. Л. Загайко [та ін.] // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії, призначення лікарських засобів». – НФаУ: Харків, 2019. – Т. 1. – С. 68.

16. The reversibility of the vitamin C redox system: Electrochemical reasons and biological aspects / H. Sapper [et al.] // *Z. Naturforsch.* – 1982. – V. 37. – P. 942–946.

17. Червяковский, Е. М. Роль флавоноидов в реакциях с переносом электронов. Труды БГУ / Е. М. Червяковский, В. П. Курченко, В. А. Костюк. – Минск, 2009. – Т. 4. – Ч. 1. – С. 9–26.

18. Cossins, E. ESR studies of vitamin C regeneration, order of reactivity of natural source phytochemical preparations / E. Cossins, R. Lee, L. Packer // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1998. – Vol. 45. – № 3. – P. 583–597.

19. Quercetin protects cutaneous tissue-associated cell types including sensory neurons from oxidative stress induced by glutathione depletion: cooperative effects of ascorbic acid / S. D. Skaper [et al.] // *Free Radical Biology & Medicine*, 1997. – Vol. 22. – No. 4. – P. 669–678.

20. Авцын, А. П. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш. – М., Медицина, 1991. – 496 с.

21. Білецька, Е. М. Селен у довіллі: еколого-гігієнічні аспекти проблеми / Е. М. Білецька, Н. М. Онул. – ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» Дніпропетровськ, 2013. – 291 с.

**Адрес для корреспонденции:**

61168, Украина,

г. Харьков, ул. Валентиновская, 4,

Национальный фармацевтический университет,

кафедра фармакогнозии,

тел. +38(0572)679208,

e-mail: olgademeshko@gmail.com,

Демешко О. В.

Поступила 07.12.2018 г.